

PCT/JP03/07915

日本国特許庁
JAPAN PATENT OFFICE

23.06.03

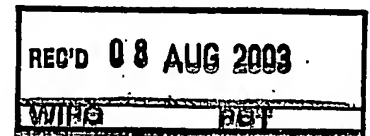
別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日 2002年 6月24日
Date of Application:

出願番号 特願2002-182969
Application Number:
[ST. 10/C]: [JP2002-182969]

出願人 財団法人大阪バイオサイエンス研究所
Applicant(s):

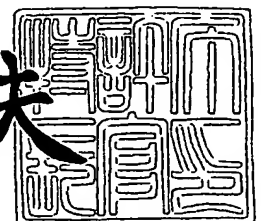


**PRIORITY
DOCUMENT**
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

2003年 7月25日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今井康夫



BEST AVAILABLE COPY

【書類名】 特許願

【整理番号】 184031

【提出日】 平成14年 6月24日

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 A61K 31/35

【発明者】

 【住所又は居所】 京都府京都市左京区下鴨松原町43 グランシティオ下鴨四季彩館503

 【氏名】 裏出 良博

【発明者】

 【住所又は居所】 大阪府吹田市五月が丘北18番38-103号

 【氏名】 ブルーノ・キルンガ・クバタ

【発明者】

 【住所又は居所】 大阪府茨木市美穂ヶ丘5-5-510

 【氏名】 村上 啓寿

【発明者】

 【住所又は居所】 大阪府豊中市緑丘3-19-2

 【氏名】 堀井 俊宏

【特許出願人】

 【識別番号】 390000745

 【住所又は居所】 大阪府吹田市古江台6丁目2番4号

 【氏名又は名称】 財団法人大阪バイオサイエンス研究所

【代理人】

 【識別番号】 100062144

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 青山 葆

【選任した代理人】

【識別番号】 100086405

【弁理士】

【氏名又は名称】 河宮 治

【選任した代理人】

【識別番号】 100068526

【弁理士】

【氏名又は名称】 田村 恭生

【選任した代理人】

【識別番号】 100098925

【弁理士】

【氏名又は名称】 上田 敏夫

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 013262

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9903409

【プルーフの要否】 要

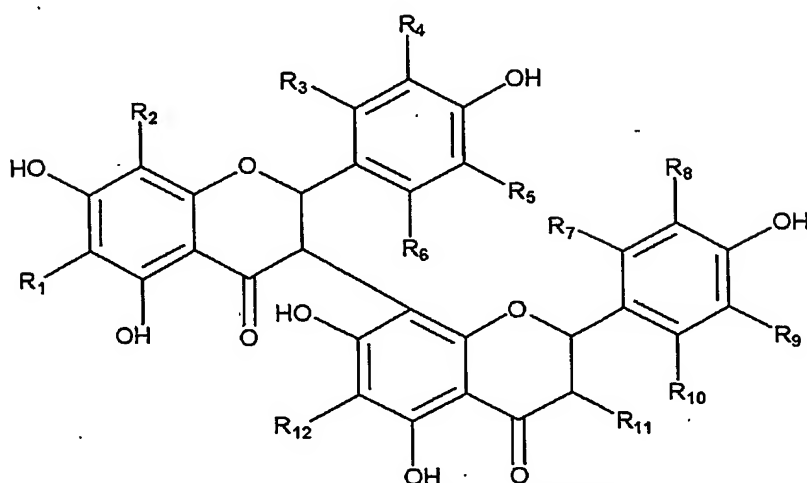
【書類名】 明細書

【発明の名称】 新規抗マラリア剤

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 一般式 (I) :

【化 1】



(式中、 $R_1 \sim R_{12}$ は、独立に、水素原子、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、アルキル基、アルコキシ基、アミノ基、またはアシルアミノ基である) で示される化合物及び医薬的に許容し得る担体を含む、マラリアの処置に使用される医薬組成物。

【請求項 2】 $R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9, R_{10}, R_{11}$ 、及び R_{12} が水素原子である化合物を用いる請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 3】 化合物が、2S, 3R, 2'S-5, 7, 5', 7'-テトラヒドロキシ-2, 2'-ビス-(4-ヒドロキシフェニル)-2, 3, 2', 3'-テトラヒドロ-[3, 8']ビクロメニル-4, 4'-ジオンである請求項 2 に記載の医薬組成物。

【請求項 4】 $R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9, R_{10}$ 、及び R_{12} が水素原子であり、 R_{11} がヒドロキシ基である化合物を用いる請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 5】 化合物が、2S, 3R, 2'S, 3'R-5, 7, 3', 5', 7'-ペンタヒドロキシ-2, 2'-ビス-(4-ヒドロキシフェニル)-2, 3, 2', 3'-テトラヒドロ-[3, 8']ビクロメニル-4, 4'-ジオンである請求項 4 に記載の医薬組成物。

【請求項 6】 化合物が、2R, 3S, 2'S, 3'R-5, 7, 3', 5', 7'-ペンタヒドロキシ-2, 2'-ビス-(4-ヒドロキシーフェニル)-2, 3, 2', 3'-テトラヒドロ-[3, 8']ビクロメニル-4, 4'-ジオンである請求項 4 に記載の医薬組成物。

【請求項 7】 式中、R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₉, R₁₀, 及び R₁₂ が水素原子であり、R₈ 及び R₁₁ がヒドロキシ基である化合物を用いる請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 8】 化合物が、2S, 3R, 2'S, 3'R-2'-(3, 4-ジヒドロキシーフェニル)-5, 7, 3', 5', 7'-ペンタヒドロキシ-2-(4-ヒドロキシーフェニル)-2, 3, 2', 3'-テトラヒドロ-[3, 8']ビクロメニル-4, 4'-ジオンである請求項 7 に記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は新規な抗マラリア剤に関する。

【0002】

【従来の技術】

マラリアは三日熱、四日熱、熱帯熱、及び卵型の 4 種のマラリア原虫（プラスモジウム）によって起される熱性疾患で特徴的な発熱型を示す。ヒトとアノフェレス蚊を宿主とする生活環を有し、蚊が媒介する。このうち熱帯熱マラリア原虫（*Plasmodium falciparum*）は熱帯地域（東南アジア、中及び南西アフリカ、中米等）において悪性のマラリアを引き起こす。マラリア流行地域における居住者は約 22 億人であり、年間の患者は約 2 億 7 千万人、年間の死亡者は約 200 万人に達する。

更に、マラリアについては以下のような深刻な問題が指摘されている（Nature, Vol. 415 (2002), p. 686）。

1) 抗マラリア剤に対する耐性：マラリアの治療に使用されるキニーネ、クロロキン、スルファドキシシン／ピリメタミン等のいくつかの抗マラリア剤が存在する。しかしこれらの抗マラリア剤に対する耐性を有するマラリア原虫が増加している。東南アジアでは *Plasmodium falciparum* はほとんどすべての抗マラリア剤に

耐性である。アフリカではクロロキン耐性が広く広がっており、スルファドキシ
ン／ピリメタミンに対する耐性の検出が増加している；2）殺虫剤に対する耐性
：西南アフリカにおいてピレスロイド殺虫剤に対する耐性を有するマラリアを媒
介する蚊が出現している。3）戦争：アフリカや他の地域における戦争は避難民
によるマラリア伝達という問題を引き起こしている；4）気候変化：地球温暖化
によって以前にはマラリアのなかった地域までマラリアが広がっている；5）旅
行：ヨーロッパにおいては毎年約7000の旅行者によるマラリアの輸入が記録
されている；6）人口増加：過去20年の間にマラリア流行地域における人口は
2倍になった。それに従ってマラリアに感染する危険のある人の数も増加した。

従って従来の抗マラリア剤に耐性のマラリアの治療に有効な新規な抗マラリア
剤に対する必要が増加している。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】

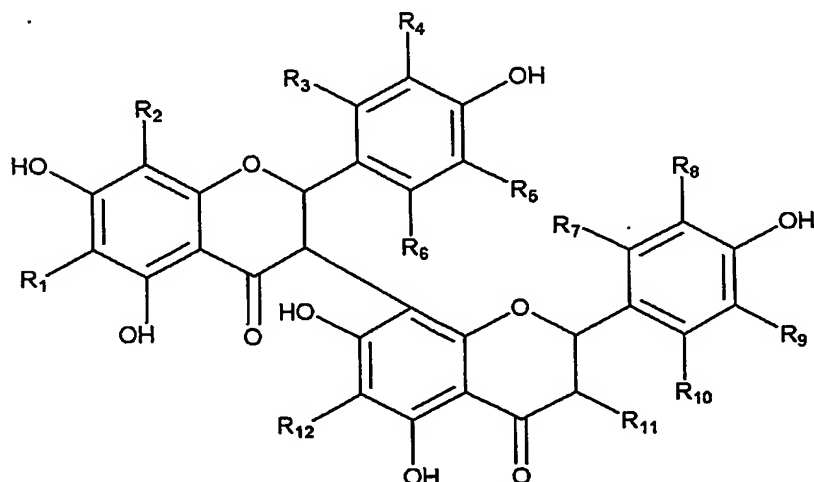
本発明は上記の問題を解決するためになされたのである。即ち本発明は従来の、
抗マラリア剤に耐性のマラリアの処置にも有効な新規な抗マラリア剤を提供する
ことを目的とする。

【0004】

【課題を解決するための手段】

本発明は、一般式（I）：

【化2】



（式中、R₁～R₁₂は、独立に水素原子、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、アル

キル基、アルコキシ基、アミノ基、またはアシルアミノ基である)
で示される化合物及び医薬的に許容し得る担体を含むマラリアの処置に使用される医薬組成物を要旨とする。

【0005】

本明細書で用いる「ハロゲン原子」という用語にはフッ素原子、塩素原子、臭素原子、ヨウ素原子を含む。

本明細書で用いる「アルキル基」という用語には炭素数1～4の直鎖又は分枝のアルキル基を含む。

本明細書で用いる「アルコキシ基」という用語は酸素原子を介して結合する上記アルキル基を意味する。

本明細書で用いる「アミノ基」という用語には、 $-NH_2$ 基のほかにその水素原子の1個又は2個が上記アルキル基で置換された2級及び3級アミノ基をも含む。

本明細書で用いる「アシルアミノ基」という用語は $RC(=O)NH-$ 基を意味し、ここでRは水素原子又は上記アルキル基である。

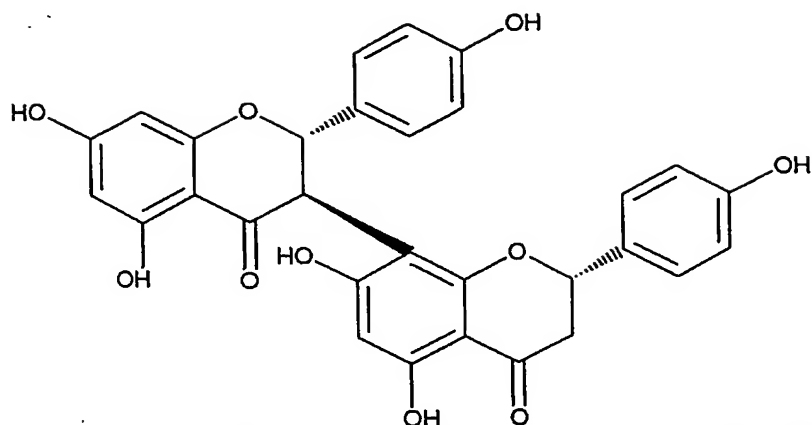
【0006】

上記一般式(I)から明らかなように本発明で使用する化合物は少なくとも3個の不斉炭素原子を有する。従って多数の立体異性体が存在し得る。それら個々の立体異性体のみならず、それらの混合物も本発明の範囲である。

【0007】

本発明の一態様によれば、一般式(I)において $R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9, R_{10}, R_{11}$ 、及び R_{12} が水素原子である化合物が使用される。このうち、式:

【化3】

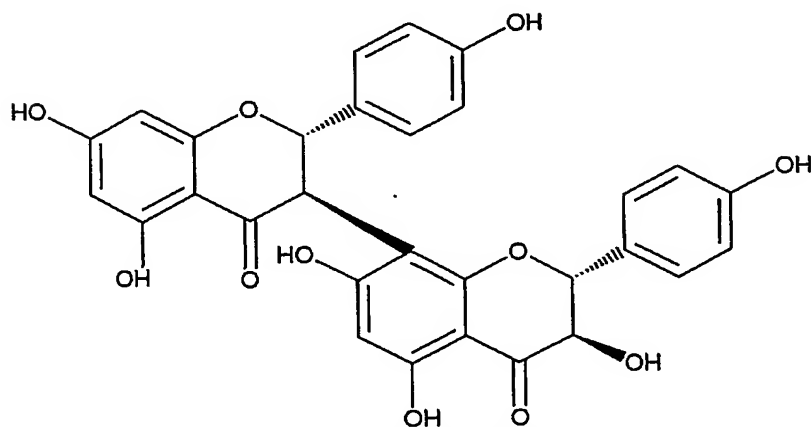


で示される化合物 (2S, 3R, 2'S-5, 7, 5', 7'-テトラヒドロキシ-2, 2'-ビス-(4-ヒドロキシーフェニル)-2, 3, 2', 3'-テトラヒドロ-[3, 8']ビクロメニル-4, 4'-ジオン) を使用することは本発明の好ましい態様である。

【0008】

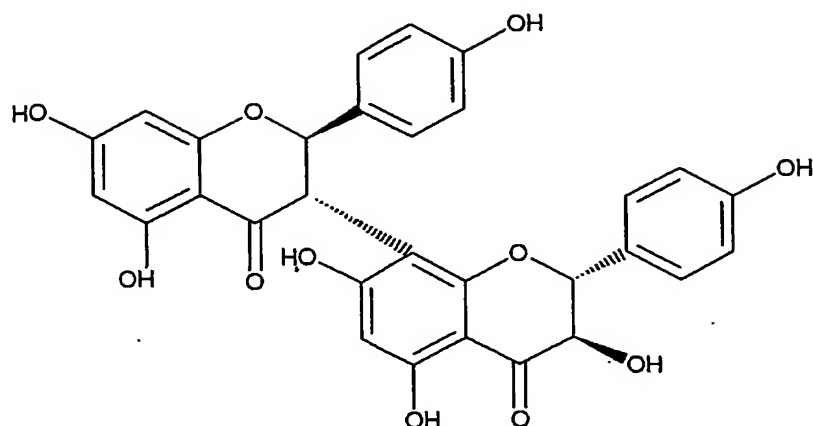
本発明の他の態様によれば、一般式 (I) において R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_8 , R_9 , R_{10} , 及び R_{12} が水素原子であり、 R_{11} がヒドロキシ基である化合物が使用される。このうち、式：

【化4】



で示される化合物 (2S, 3R, 2'S, 3'R-5, 7, 3', 5', 7'-ペンタヒドロキシ-2, 2'-ビス-(4-ヒドロキシーフェニル)-2, 3, 2', 3'-テトラヒドロ-[3, 8']ビクロメニル-4, 4'-ジオン)、又は式：

【化5】



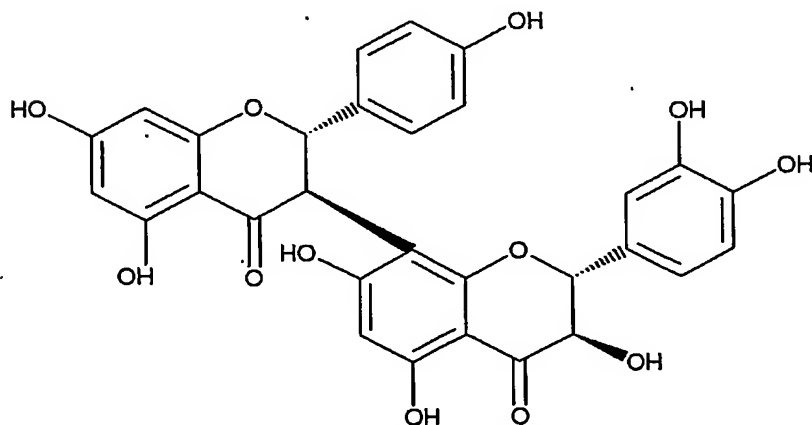
で示される化合物 (2R,3S,2'S,3'R-5,7,3',5',7'-ペンタヒドロキシ-2,2'-ビス-(4-ヒドロキシフェニル)-2,3,2',3'-テトラヒドロ-[3,8']ピクロメニル-4,4'-ジオン) を使用することは本発明の好ましい態様である。

【0009】

本発明の他の態様によれば、一般式 (I) において R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_9 , R_{10} , 及び R_{12} が水素原子であり、 R_8 及び R_{11} がヒドロキシ基である化合物が使用される。

このうち、式:

【化6】



で示される化合物 (2S,3R,2'S,3'R-2'-(3,4-ジヒドロキシフェニル)-5,7,3',5',7'-ペンタヒドロキシ-2-(4-ヒドロキシフェニル)-2,3,2',3'-テトラヒドロ-[3,8']ピクロメニル-4,4'-ジオン) を使用することは本発明の好ましい態様である。

【0010】

本発明の医薬組成物に用いられる一般式 (I) で表わされる化合物は製造実施例に示すように *Garcinia kola* 等の植物から単離することができるが、合成的な方法により製造することも可能である。

【0011】

【実施例】

製造実施例

Garcinia kola から本発明の化合物をその抗マラリア活性を指標として以下のような手順で抽出、単離した。

【0012】

(1) 70%エタノールによる抽出

粉碎した *Garcinia kola* の種子 500 g に 70%エタノール 4 L を加え室温で 24 時間抽出した。この操作を更に 2 回行なった。濾過し、濾液を濃縮し 27.12 g の固体 (以下「EtOH抽出物」と呼ぶ) を得た。

【0013】

(2) CH₂Cl₂/H₂O 処理

(1) で得たエタノール抽出物を CH₂Cl₂/H₂O の 750 mL/800 mL 混合液に加え、よく攪拌し、両層に分配溶解させた。不溶物について同じ操作を繰り返した。層分離を行ない、CH₂Cl₂ 層を絶乾して 7 g の固体 (以下「CH₂Cl₂抽出物」と呼ぶ) を得た。

【0014】

(3) 酢酸エチルによる抽出

(2) の層分離で得た水層に酢酸エチル 750 mL を加え層分離を行なった。水層に更に酢酸エチル 750 mL を加え層分離を行なった。一緒にした酢酸エチル層を絶乾して 10 g の固体 (以下「酢酸エチル抽出物」と呼ぶ) を得た。

【0015】

(4) n-ブタノールによる抽出

(3) の層分離で得た水層に n-ブタノール 500 mL を加えよく振とう後、層分離を行なった。水層に更に n-ブタノール 500 mL を加え層分離を行なった。一緒にした n-ブタノール層を絶乾して 6 g の固体 (以下「n-ブタノール

抽出物」と呼ぶ)を得た。水層を絶乾して3 gの固体(以下「水抽出物」と呼ぶ)を得た。

【0016】

(5) 各抽出物の抗Plasmodium falciparum活性の測定

(1)～(4)で得た各抽出物のPlasmodium falciparum生育阻害活性を次のようにして測定した。

抗マラリア活性評価のための実験には熱帯熱マラリア原虫(Plasmodium falciparum)は、ガンビアで単離されたFCR3株(シクログアニル耐性)を用いた。ソルビトール処理により、ring期に同調させたマラリア原虫を50 μ L 96穴のプレートに注入した。この培養液のヘマトクリット値は2%であり、感染率は0.55%である。被験物質をDMSOに溶解させ、培地を用いて適切な濃度に希釈した後、50 μ Lの被験物質の溶液を先の96穴プレートに添加して、合計100 μ Lとする。添加したDMSOの終濃度は1%である。続いて、37℃で48時間時間培養した後、スライドグラス上で作成したスメアフィルムをGiemsa染色液で染色した後、顕微鏡下で10000個の赤血球のなかでの感染した赤血球数を求めた。DMSOのみを添加した場合の感染率と被験物存在下の感染率から、マラリア原虫の増殖阻害率を算出した。陽性対照薬としてはキニーネを使用した。結果を表1に示す。

【表1】

P. falciparumの生育阻害 (%)		
試料	濃度	
	5 μ g/mL	0.5 μ g/mL
EtOH抽出物	87%	73%
CH ₂ Cl ₂ 抽出物	88	77
酢酸エチル抽出物	90	72
n-ブタノール抽出物	90	82
水抽出物	0	0

対照: キニーネ (100 ng/mL) 90%; (33 ng/mL) 73%

【0017】

(6) シリカゲルカラムクロマトグラフィーによる分別

(2) で得た CH_2Cl_2 抽出物及び (3) で得た酢酸エチル抽出物を一緒にした試料 3 g をシリカゲルカラムクロマトグラフィーを用いて分別した。

試料 3 g を SiO_2 (80g) を充填したガラスカラム (充填溶媒 $\text{CHCl}_3:\text{EtOAc}=90:10$) に吸着させ、溶出溶媒として $\text{CHCl}_3:\text{EtOAc}=90:10$ を通導させ、画分 A (249 mg) を得た。さらに、溶出溶媒を変化させ、以下の各画分を得た。画分 B (537 mg, 溶出溶媒 $\text{CHCl}_3:\text{EtOAc}=70:30$)、画分 C (82 mg, 溶出溶媒 $\text{CHCl}_3:\text{EtOAc}=60:40$)、画分 D (445 mg, 溶出溶媒 $\text{CHCl}_3:\text{EtOAc}=50:50$)、画分 E (655 mg, 溶出溶媒 $\text{CHCl}_3:\text{EtOAc}=40:60$)、画分 F (325 mg, 溶出溶媒 EtOAc)、画分 G (340 mg, 溶出溶媒 MeOH)。このようにして画分 A (249 mg), B (537 mg), C (82 mg), D (445 mg), E (655 mg), F (325 mg)、及び G (340 mg) を得た。

【 0 0 1 8 】

(7) 画分 A ～ G の抗マラリア活性

画分 A ～ G の抗マラリア活性を (5) と同様の方法により測定した。また画分 A ～ G の毒性を調べるためにヒトのガン細胞 KB 3 - 1 の生育阻害%を次のようにして測定した。

KB3-1細胞の浮遊液 $100\mu\text{L}$ (2×10^4 個/ml) に被験物質を DMSO に溶解させ、培地を用いて適切な濃度に希釈した検体含有液の $100\mu\text{L}$ (DMSO の終濃度 1%) を添加し、5 % CO_2 , 37°C の条件下で培養した。培養 72 時間後、MTT 試薬 $25\mu\text{L}$ を添加し、3 時間培養後、培地のみを吸引除去し、DMSO $200\mu\text{L}$ を加え、生成した MTT folmazan を抽出し、その色素量を比色定量法 (540 nm) によって定量した。生成した色素量から生存細胞数を算出し、生育阻害率を求めて、活性を評価した。なお 陽性対照薬として、mitomycin C を用いた。結果を表 2 に示す。

【表 2】

画分 A ～ G の抗マラリア活性

	P. falciparum の阻害% 1)		KB 3 - 1 阻害% 2)	
	$5\mu\text{g/mL}$	$0.5\mu\text{g/mL}$	$50\mu\text{g/mL}$	$5\mu\text{g/mL}$
画分 A	83 %	79 %	80 %	8 %
画分 B	77	56	88	17

画分C	60	65	80	5
画分D	60	68	40	4
画分E	65	70	10	22
画分F	82	70	0	6
画分G	78	75	20	4
EtOAc+CH ₂ Cl ₂	84	72	11	5

抽出物

1) 対照: キニーネ 0.1 μ g/mL 90%; 0.033 μ g/mL 62%

2) 対照: マイトマイシンC 1 μ g/mL 43%

【0019】

(8) 画分DのODSカラムによる分別

上で得られた画分D (445 mg) のODSカラムによる分別を次のように行なった。試料445mgをODS(15g)を充填したガラスカラム(充填溶媒 MeOH:H₂O=45:55)に吸着させ、溶出溶媒としてMeOH:H₂O=45:55を通導させ、画分D1(280 mg)、画分D2(41 mg)を得た。さらに、溶出溶媒をMeOHに変化させ、画分D3(80 mg)を得た。このようにして画分D1(280 mg), D2(41 mg), 及びD3(80 mg)を得た。

画分D2についてODS HPLCによる分別を次のように行なった。画分D2(41 mg)を、カラム(cosmosil C18 10 mm i.d. X 250 mm)、移動相(CH₃CN:H₂O:TF A=40:60:0.1)、流速3.0mL/min、検知(UV 240 nm)を用いて、分離精製し、画分GK-1(33 mg)を得た。なお画分D1はGK-1とGK-2の1:1混合物であった。

【0020】

(9) 画分FのODS HPLCによる分別

画分F(100 mg)についてODS HPLCによる分別を次のように行なった。画分F(100 mg)を、カラム(cosmosil C18 10 mm i.d. X 250 mm)、移動相(MeOH:H₂O=50:50)、流速2.5mL/min、検知(UV 240 nm)を用いて、分離精製し、画分GK-3(24 mg)及び画分GK-4(36 mg)を得た。

【0021】

(10) 各画分の同定

上で得た画分 GK-1, E (以下 GK-2 と呼ぶ), GK-3 及び GK-4 について ^1H NMR, ^{13}C NMR、及び FAB-MS の測定を行ない、化合物を同定した。

【0022】

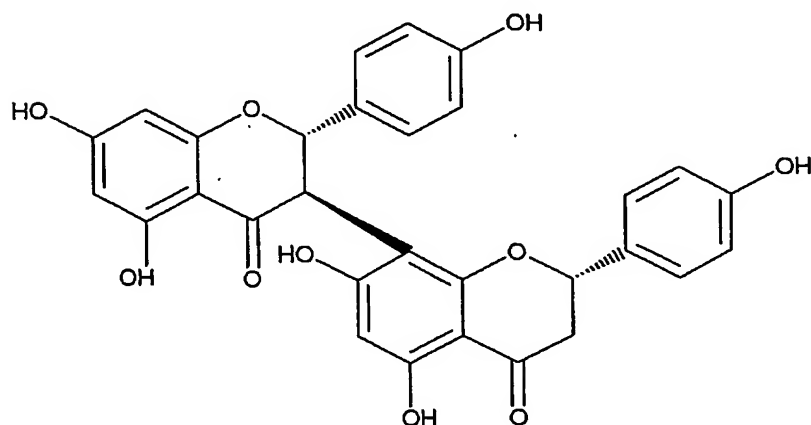
(10-1) GK-1

^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.17 (1H, s, II-OH-5), 12.01 (1H, s, II-OH-5), 10.82 (1H, s, I-OH-7), 10.73 (1H, s, II-OH-7), 9.45 (2H, s, I-OH-4', II-OH-4'), 7.20 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, II-2', 6'), 7.10 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, I-2', 6'), 6.64 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, I-3', 5'), 6.62 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, II-3', 5'), 5.90 (1H, s, I-6), 5.84 (1H, s, I-8), 5.79 (1H, s, II-6), 5.56 (1H, d, $J = 12.2$ Hz, I-2), 5.38 (1H, d, $J = 12.2$ Hz, II-2), 4.66 (H, d, $J = 12.2$ Hz, I-3), 2.94 (1H, m, II-3a), 2.74 (1H, m, II-3b). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ c: 196.4 (II-4), 195.9 (I-4), 166.3 (I-7), 164.3 (II-7), 163.5 (I-5), 162.5 (II-5), 161.9 (I-9), 159.6 (II-9), 157.4 (I-4'), 157.0 (II-4'), 129.0 (II-1'), 128.8 (I-2', 6'), 127.9 (I-1'), 126.5 (II-2', 6'), 114.8 (II-3', 5'), 114.6 (I-3', 5'), 101.4 (II-8), 101.3 (I-10), 101.2 (I-10), 96.0 (I-6), 95.0 (I-8), 94.9 (II-6), 81.2 (I-2), 78.1 (II-2), 47.3 (I-3), 42.6 (II-3). ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) atropisomer δ : 12.28 (1H, s, I-OH-5), 12.13 (1H, s, II-OH-5), 11.17 (1H, s, I-OH-7), 10.73 (1H, s, II-OH-7), 9.59 (1H, s, II-OH-4'), 9.52 (1H, s, I-OH-4'), 7.13 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, II-2', 6'), 7.10 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, I-2', 6'), 6.83 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, II-3', 5'), 6.70 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, I-3', 5'), 5.94 (1H, s, II-6), 5.90 (1H, s, I-6), 5.76 (1H, s, I-8), 5.68 (1H, d, $J = 12.2$ Hz, I-2), 5.38 (1H, d, $J = 12.2$ Hz, II-2), 4.51 (H, d, $J = 12.2$ Hz, I-3), 2.74 (1H, m, II-3a), 2.58 (1H, m, II-3b). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6) atropisomer δ c: 196.6 (II-4), 195.9 (I-4), 166.3 (I-7), 164.8 (II-7), 163.7 (I-5), 162.6 (II-5), 162.3 (I-9), 160.6 (II-9), 157.6 (I-4', II-4'), 129.3 (II-1'), 128.8 (I-2', 6'), 127.9 (I-1'), 127.6 (II-2', 6'), 115.1 (II-3', 5'), 114.6 (I-3', 5'), 101.8 (I-10), 101.4 (II-8)

), 101.3 (II-10), 96.0 (I-6), 95.5 (I-8), 94.9 (II-6), 81.6 (I-2), 78.3 (II-2), 47.3 (I-3), 43.0 (II-3). FAB-MS: 543 (M+H)⁺

これらのデータより GK-1 は次の構造式を有する化合物 (2S, 3R, 2'S-5, 7, 5', 7'-テトラヒドロキシ-2, 2'-ビス-(4-ヒドロキシフェニル)-2, 3, 2', 3'-テトラヒドロ-[3, 8']ピクロメニル-4, 4'-ジオン) と考えられる。

【化7】



【0023】

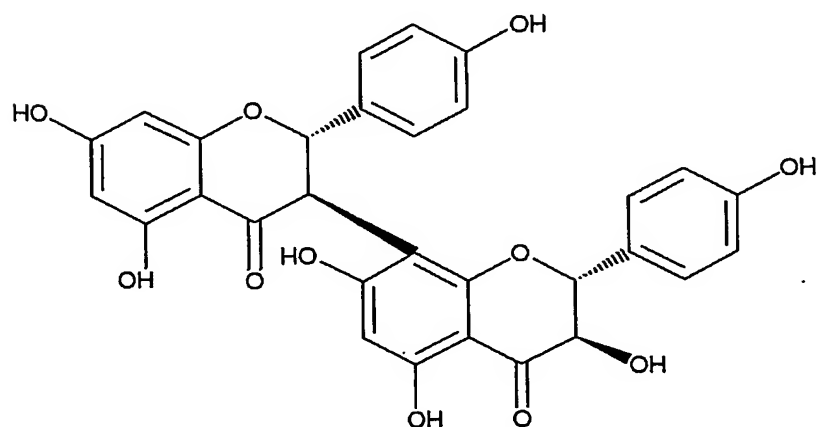
(10-2) GK-2

¹H NMR (500 MHz, DMSO- d₆) δ: 12.27 (1H, s, I-OH-5), 11.83 (1H, s, II-OH-5), 11.18 (1H, s, I-OH-7), 10.69 (1H, s, II-OH-7), 9.53 (1H, s, II-OH-4'), 9.51 (1H, s, I-OH-4'), 7.16 (2H, d, J = 8.0 Hz, II-2', 6'), 7.07 (2H, d, J = 8.0 Hz, I-2', 6'), 6.82 (2H, d, J = 8.0 Hz, II-3', 5'), 6.74 (2H, d, J = 8.0 Hz, I-3', 5'), 5.93 (1H, s, II-6), 5.88 (1H, s, I-6), 5.75 (1H, s, I-8), 5.72 (1H, d, J = 5.5 Hz, II-OH-3), 5.64 (1H, d, J = 12.2 Hz, I-2), 4.96 (1H, d, J = 12.2 Hz, II-2), 4.42 (1H, d, J = 12.2 Hz, I-3), 3.98 (1H, dd, J = 12.2, 5.5 Hz, II-3); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO- d₆) δ c: 197.4 (II-4), 196.3 (I-4), 166.2 (I-7), 164.4 (II-7), 163.7 (I-5), 162.8 (II-5), 162.5 (I-9), 160.8 (II-9), 157.6 (I-4', II-4'), 128.9 (II-2', 6'), 128.6 (I-2', 6'), 128.1 (I-1'), 127.4 (II-1'), 114.8 (II-3', 5'), 114.6 (I-3', 5'), 101.2 (I-10), 101.1 (II-8), 99.7 (II-10), 96.0 (I-6), 95.7 (II-6), 94.9 (I-8), 82.4 (II-2), 81.1 (I-2), 71.8 (II-3), 47.3 (I-3). ¹H NMR (500 MHz, DMSO- d₆) atropisomer δ: 12.14 (1H, s, I-OH-5), 11

.70 (1H, s, II-OH-5), 10.82 (1H, s, I-OH-7), 10.65 (1H, s, II-OH-7), 9.42 (1H, s, I-OH-4'), 9.38 (1H, s, II-OH-4'), 7.16 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, II-2', 6'), 7.07 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, I-2', 6'), 6.64 (4H, d, $J = 8.0$ Hz, I-3', 5', II-3', 5'), 5.88 (1H, s, I-6), 5.85 (1H, s, I-8), 5.83 (1H, d, $J = 5.5$ Hz, II-OH-3), 5.79 (1H, s, II-6), 5.31 (1H, d, $J = 12.2$ Hz, I-2), 5.13 (1H, d, $J = 12.2$ Hz, II-2), 4.64 (1H, d, $J = 12.2$ Hz, I-3), 4.22 (1H, dd, $J = 12.2, 5.5$ Hz, II-3). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6) atropisomer δ_c : 197.4 (II-4), 196.6 (I-4), 166.3 (I-7), 164.9 (II-7), 163.5 (I-5), 162.5 (I-9), 161.7 (II-5), 159.3 (II-9), 157.5 (I-4'), 157.2 (II-4'), 128.8 (I-2', 6'), 128.1 (II-2', 6'), 127.8 (II-1'), 127.7 (I-1'), 114.6 (I-3', 5', II-3', 5'), 101.2 (I-10), 101.1 (II-8), 100.2 (II-10), 96.0 (I-6), 95.3 (II-6), 94.9 (I-8), 82.4 (II-2), 81.6 (I-2), 72.3 (II-3), 47.3 (I-3). FAB-MS: 559 ($M+H$) $^+$

これらのデータより GK-2 は次の構造式を有する化合物 (2S, 3R, 2'S, 3'R-5, 7, 3', 5', 7'-ペンタヒドロキシ-2, 2'-ビス-(4-ヒドロキシフェニル)-2, 3, 2', 3'-テトラヒドロ-[3, 8']ピクロメニル-4, 4'-ジオン) と考えられる。

【化 8】



【0024】

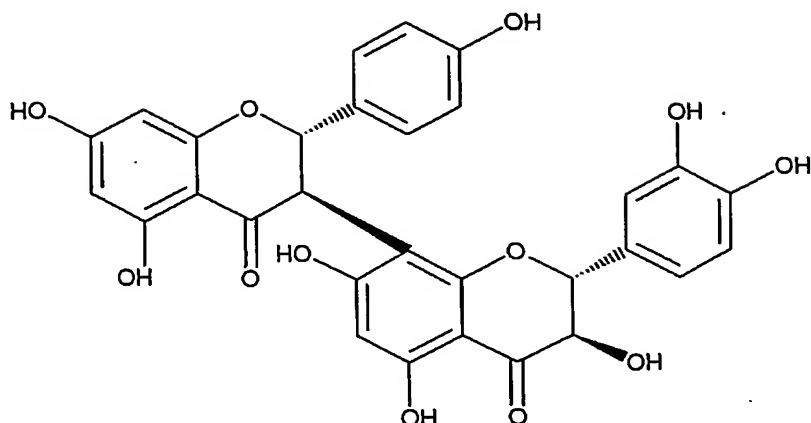
(10-3) GK-3

^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.19 (1H, s, I-OH-5), 11.83 (1H, s, II-OH-5), 10.76 (1H, s, II-OH-7), 9.55 (1H, s, I-OH-4'), 8.95 (1H, s, II-OH-4'), 8.92 (1H, s, II-OH-3'), 7.09 (2H, m, I-2', 6'), 6.83 (1H, s, II-2')

, 6.79 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, II-6'), 6.76 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, II-5'), 6.64 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, I-3', 5'), 5.91 (1H, s, II-6), 5.87 (1H, s, I-6), 5.75 (1H, s, I-8), 5.72 (1H, d, $J = 5.5$ Hz, II-OH-3), 5.67 (1H, d, $J = 12.2$ Hz, I-2), 4.88 (1H, d, $J = 12.2$ Hz, II-2), 4.46 (1H, d, $J = 12.2$ Hz, I-3), 3.96 (1H, dd, $J = 12.2, 5.5$ Hz, II-3); ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ c: 197.4 (II-4), 196.2 (I-4), 166.2 (I-7), 164.3 (II-7), 163.4 (I-5), 162.4 (I-9), 162.0 (II-5), 160.0 (II-9), 157.9 (II-4'), 145.2 (II-4'), 144.4 (II-3'), 128.7 (I-2', 6'), 127.7 (I-1', II-1'), 117.2 (II-6'), 115.2 (II-5'), 114.6 (I-3', 5'), 101.2 (I-10), 101.1 (II-8), 99.6 (II-10), 95.9 (I-6), 95.6 (II-6), 94.8 (I-8), 82.6 (II-2), 81.1 (I-2), 71.7 (II-3), 47.0 (I-3). ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) atropisomer δ : 12.12 (1H, s, I-OH-5), 11.76 (1H, s, II-OH-5), 10.71 (1H, s, II-OH-7), 9.49 (1H, s, I-OH-4'), 9.11 (1H, s, II-OH-4'), 8.83 (1H, s, II-OH-3'), 7.09 (2H, m, I-2', 6'), 6.76 (2H, m, II-2', 6'), 6.64 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, I-3', 5'), 6.59 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, II-5'), 5.87 (1H, s, I-6), 5.85 (1H, d, $J = 5.5$ Hz, II-OH-3), 5.84 (1H, s, I-8), 5.80 (1H, s, II-6), 5.35 (1H, d, $J = 12.2$ Hz, I-2), 5.00 (1H, d, $J = 12.2$ Hz, II-2), 4.66 (1H, d, $J = 12.2$ Hz, I-3), 4.19 (1H, dd, $J = 12.2, 5.5$ Hz, II-3). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6) atropisomer δ c: 197.4 (II-4), 196.2 (I-4), 166.2 (I-7), 164.8 (II-7), 163.4 (I-5), 162.6 (I-9), 161.6 (II-5), 159.3 (II-9), 157.4 (I-4'), 145.7 (II-4'), 144.8 (II-3'), 128.7 (I-2', 6'), 127.9 (I-1', II-1'), 118.8 (II-6'), 115.2 (II-5'), 114.6 (I-3', 5'), 101.2 (II-10), 101.1 (I-10), 100.1 (II-8), 95.9 (I-6), 95.2 (II-6), 94.8 (I-8), 82.6 (II-2), 81.5 (I-2), 72.1 (II-3), 47.0 (I-3). FAB-MS: 575 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$

これらのデータより GK-3 は次の構造式を有する化合物 (2S, 3R, 2'S, 3'R-2'-(3,4-ジヒドロキシフェニル)-5,7,3',5',7'-ペンタヒドロキシ-2-(4-ヒドロキシフェニル)-2,3,2',3'-テトラヒドロ-[3,8']ピクロメニル-4,4'-ジオン) と考えられる。

【化9】



【0025】

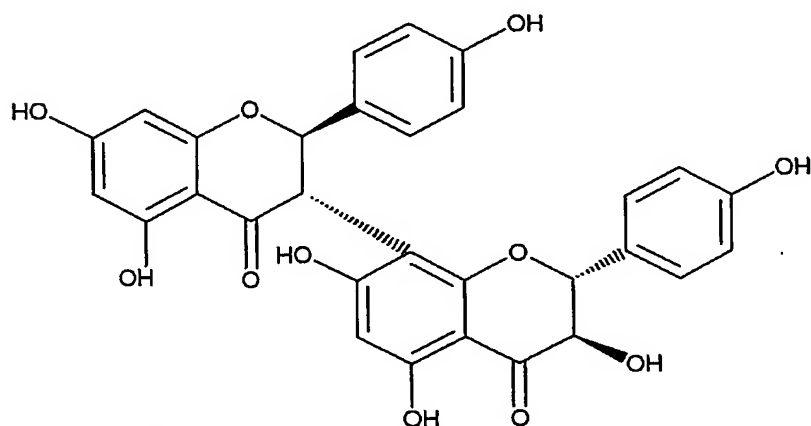
(10-4) GK-4

^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.18 (1H, s, I-OH-5), 11.73 (1H, s, II-OH-5), 9.53 (1H, s, I-OH-4'), 9.38 (1H, s, II-OH-4'), 7.16 (2H, d, J = 8.0 Hz, II-2', 6'), 7.08 (2H, d, J = 8.0 Hz, I-2', 6'), 6.64 (4H, d, J = 8.0 Hz, I-3', 5', II-3', 5'), 5.88 (1H, s, I-6), 5.85 (1H, d, J = 5.5 Hz, I-OH-3), 5.84 (1H, s, I-8), 5.78 (1H, s, II-6), 5.32 (1H, d, J = 12.2 Hz, I-2), 5.12 (1H, d, J = 12.2 Hz, II-2), 4.66 (1H, d, J = 12.2 Hz, I-3), 4.21 (1H, br.d, J = 12.2 Hz, II-3). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ c: 197.1 (II-4), 196.8 (I-4), 166.4 (I-7), 165.5 (II-7), 163.7 (I-5), 162.6 (I-9), 161.7 (II-5), 159.3 (II-9), 157.5 (I-4'), 157.2 (II-4'), 128.9 (I-2', 6'), 128.0 (II-2', 6'), 127.8 (II-1'), 127.7 (I-1'), 114.6 (I-3', 5', II-3', 5'), 101.3 (I-10, II-8, 10), 96.0 (I-6), 95.4 (II-6), 94.9 (I-8), 82.4 (II-2), 81.7 (I-2), 72.7 (II-3), 47.2 (I-3). ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) atropisomer δ : 12.28 (1H, s, I-OH-5), 11.86 (1H, s, II-OH-5), 9.53 (2H, s, I-OH-4', II-OH-4'), 7.16 (2H, d, J = 8.0 Hz, II-2', 6'), 7.08 (2H, d, J = 8.0 Hz, I-2', 6'), 6.83 (2H, d, J = 8.0 Hz, II-3', 5'), 6.74 (2H, d, J = 8.0 Hz, I-3', 5'), 5.89 (1H, s, II-6), 5.88 (1H, s, I-6), 5.75 (1H, s, I-8), 5.72 (1H, d, J = 5.5 Hz, II-OH-3), 5.66 (1H, d, J = 12.2 Hz, I-2), 4.94 (1H, d, J = 12.2 Hz, II-2), 4.39 (1H, d, J = 12.2 Hz, I-3), 3.96 (1H, dd, J = 12.2, 5.5 Hz, II-3). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ c:

tropisomer δ c: 197.8 (II-4), 196.4 (I-4), 166.3 (I-7), 163.7 (II-7), 162.5 (I-9), 162.1 (II-5), 160.0 (II-9), 159.4 (I-5), 157.7 (II-4'), 157.6 (I-4'), 129.0 (II-2', 6'), 128.2 (I-1'), 128.0 (I-2', 6'), 127.5 (II-1'), 114.8 (II-3', 5'), 114.6 (I-3', 5'), 101.3 (II-8), 100.0 (I-10), 99.3 (II-10), 96.0 (I-6, II-6), 94.9 (I-8), 82.4 (II-2), 81.1 (I-2), 71.8 (II-3), 47.2 (I-3). FAB-MS: 559 (M+H)⁺

これらのデータより GK-4 は次の構造式を有する化合物 (2R, 3S, 2'S, 3'R-5, 7, 3', 5', 7'-ペンタヒドロキシ-2, 2'-ビス-(4-ヒドロキシフェニル)-2, 3, 2', 3'-テトラヒドロ-[3, 8']ピクロメニル-4, 4'-ジオン) と考えられる。

【化 1 0】



(11) 各化合物の抗マラリア活性

同定された各化合物について抗マラリア活性及び毒性試験をおこなった。抗マラリア活性の試験は (5) に記載のように行ない、毒性試験は (7) に記載のようにおこなった。結果は IC₅₀ で示し、それらの比を選択毒性の指標として示した。

【0 0 2 6】

【表 3】

各化合物の抗マラリア活性と選択毒性

化合物	P. falciparum ¹ (IC ₅₀ , μ g/mL)	KB 3-1 ² (IC ₅₀ , μ g/mL)	選択毒性 ³
GK-1	0.35	27	77
GK-2	0.09	>100	>1100

GK-3	0. 1 2	>1 0 0	>8 3 0
------	--------	--------	--------

GK-4	1. 1	>1 0 0	>9 1
------	------	--------	------

注1 対照 P.falciparum キーネ 0.1 μ g/mL:82%; 0.033 μ g/mL:36%

注2 対照 KB3-1 マイトマイシンC 1 μ g/mL:39%

注3 IC₅₀ (KB3-1)/IC₅₀ (P.falciparum)

【0 0 2 7】

製剤

表から明らかなように、本発明の化合物はすぐれた抗マラリア作用を有し、毒性は低い。

本発明の化合物はその薬理作用に基いて、投与目的に対する各種の製薬形態で使用可能である。本発明の医薬組成物は活性成分として一般式 (I) で表わされる化合物を、医薬的に受容し得る担体と均一に混合して製造できる。この担体は投与に対して望ましい製剤の形態に応じて広い形態をとることができる。これらの医薬組成物は経口的又は注射による投与に対して適する単位服用形態にあることが望ましい。経口服用形態にある組成物の調製においては何らかの有用な医薬的に受容し得る担体を使用できる。例えば、懸濁剤、シロップ剤等の経口液体調製物は水、シュクロース、ソルビトール、フラクトース等の糖類、ポリエチレングリコール、プロピレングリコール等のグリコール類、ゴマ油、オリーブ油、大豆油等の油類、アルキルパラバンヒドロキシベンゾエート等の防腐剤、ストロベリー・フレーバー、ペッパーミント等のフレーバー類を使用して製造できる。

散剤、丸薬、カプセル及び錠剤はラクトース、グルコース、シュクロース、マニトール等の賦形剤、デンプン、アルギン酸ソーダ等の崩壊剤、ステアリン酸マグネシウム、タルク等の滑沢剤、ポリビニルアルコール、ヒドロキシプロピルセルロース、ゼラチン等の結合剤、脂肪酸エステル剤等の表面活性剤、グリセリン等の可塑剤を用いて製造できる。錠剤及びカプセルは投与が容易であるので最も有用な単位経口投与剤である。錠剤やカプセルを製造する際には固体の担体を用いられる。また注射用の溶液は水溶液からなる担体を用いて調製することができる。

【0 0 2 8】

有効投与量

本発明の医薬は経口投与又は注射投与され、その有効投与量は $1 \sim 100 \text{ mg} / \text{kg} / \text{日}$ 、好ましくは $10 \sim 50 \text{ mg} / \text{kg} / \text{日}$ であり、その投与回数は1日約3回が好ましい。

【0029】

製剤例

製剤例 1

常法により次の組成のゼラチン硬カプセル剤を調製した。

活性成分	25 mg
デンプン	150 mg
ステアリン酸マグネシウム	10 mg

【0030】

製剤例 2

常法により次の組成の錠剤を調製した。

活性成分	25 mg
セルロース、微晶質	275 mg
二酸化ケイ素	10 mg
ステアリン酸マグネシウム	5 mg

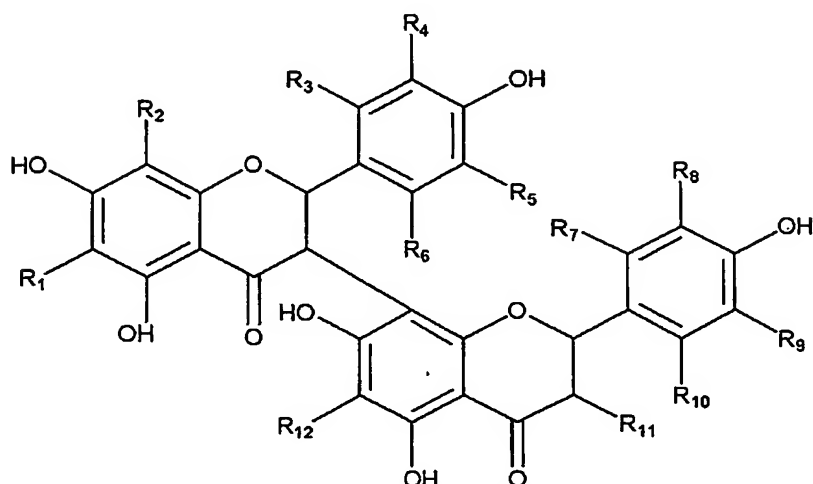
【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 新規な抗マラリア剤を提供する。

【解決手段】 上記目的は、医薬的に許容し得る担体とともに、一般式（I）：

【化1】



（式中、R₁～R₁₂は、独立に水素原子、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、アルキル基、アルコキシ基、アミノ基、またはアシルアミノ基である）
によって表わされる化合物を含む医薬組成物により解決される。

【選択図】 なし

特願 2002-182969

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[390000745]

1. 変更年月日

1990年 9月21日

[変更理由]

新規登録

住 所

大阪府吹田市古江台6丁目2番4号

氏 名

財団法人大阪バイオサイエンス研究所